Identifikasi Senyawa Sitotoksik dalam Ekstrak Kloroform Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Menggunakan GC–Ms

Ayu Ni'mah Azifa^a, Dewi Kusrini^{a*}, Enny Fachriyah^a

^a Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: dewi.kusrini@live.undip.ac.id

Article Info	Abstract
<p>Keywords: Chloroform extract, Tempuyung Leaf (<i>Sonchus arvensis</i> L.), cytotoxic, BSLT, GC-MS</p>	<p>Identification of cytotoxic compounds from chloroform extract of tempuyung leaf (<i>Sonchus arvensis</i> L.) using GC-MS has been done. This identification was done using GC-MS method and activity test using BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. From the activity test, it was found that the fraction of B result of chloroform extract column is very cytotoxic fraction with $LC_{50} = 7,862$ ppm. In the identification of B fraction, 29 compounds were obtained and 5 compounds were identified with the highest abundance of dibutyl phthalate with retention time of 22.265 minutes and the area of 7.71%, palmitic acid with retention time of 22.626 minutes and the area of 8.49%, 8, 11.14-eicosatrieonic acid with a retention time of 24.4 minutes and an area of 6.95, a dioctyl adipate with retention time of 26.517 minutes and an area of 7.90%, and dioctyl phthalate with retention time of 28.983 minutes and an area of 10.61%.</p>
<p>Kata Kunci: Ekstrak kloroform, Daun Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.), sitotoksik, BSLT, GC-MS</p>	<p>Abstrak</p> <p>Identifikasi senyawa sitotoksik dari ekstrak kloroform daun tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.) menggunakan GC-MS telah dilakukan. Identifikasi ini dilakukan menggunakan metode GC-MS dan uji aktivitas menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Dari uji aktivitas, diperoleh bahwa fraksi B hasil kolom ekstrak kloroform merupakan fraksi yang sangat sitotoksik dengan harga $LC_{50} = 7,862$ ppm. Pada identifikasi fraksi B, diperoleh 29 senyawa dan ada 5 senyawa yang teridentifikasi dengan kelimpahan tertinggi yaitu dibutil ftalat dengan waktu retensi 22,265 menit dan luas area 7,71%, asam palmitat dengan waktu retensi 22,626 menit dan luas area 8,49%, 8,11,14-asam eikosatrieonat dengan waktu retensi 24,4 menit dan luas area 6,95, dioktil adipat dengan waktu retensi 26,517 menit dan luas area 7,90%, serta dioktil ftalat dengan waktu retensi 28,983 menit dan luas area 10,61%.</p>

1. Pendahuluan

Indonesia kaya dengan tanaman obat yang perlu dilindungi dan dimanfaatkan, seperti halnya masyarakat di Jawa Tengah khususnya yang memanfaatkan bermacam-macam tumbuhan sebagai ramuan obat tradisional untuk penyembuhan beberapa penyakit tertentu. Salah satu tumbuhan yang digunakan secara tradisional sebagai obat atau ramuan obat adalah tumbuhan tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

Tanaman tempuyung termasuk dalam suku Asteraceae, marga *Sonchus*, dan jenis *arvensis*. Banyak pengalaman yang menunjukkan bahwa daun tempuyung ini dapat berpotensi sebagai obat, seperti asam urat dan diuretik [1]. Menurut Xu dkk. [2] tanaman ini dapat digunakan untuk pengobatan asma, batuk, dan dapat menenangkan saraf. Selain itu, tempuyung juga bisa digunakan untuk mengobati demam, peradangan, penghancur batu ginjal, sirkulasi darah dan sebagai aktivitas anti bakteri [3].

Kandungan senyawa pada daun tempuyung diantaranya flavonoid (kaemferol, luteolin-7-glukosida dan apigenin-7-O-glukosida), saponin, kumarin (skopoletin), polifenol, α -laktuserol, β -laktuserol, manitol, inositol, taraksasterol, serta asam-asam fenolat (sinamat, kumarat, dan vanilat) [4], 7,4-dihidroksi flavon [5], sesquiterpen dari golongan terpenoid [3], turunan asam kuinat yaitu 1,3,4,5-tetra-(p-hidroksifenilasetil) dan sesquiterpen [2], minyak atsiri [6].

Identifikasi senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak pelarut polar daun tempuyung sudah banyak dilakukan pada penelitian sebelumnya, tetapi untuk identifikasi senyawa-senyawa yang bersifat sitotoksik dalam ekstrak pelarut semi polar pada daun tempuyung belum ditemukan. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan identifikasi senyawa-senyawa sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dari ekstrak kloroform daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan menggunakan metode GC-MS.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh ekstrak kloroform daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* L dan mengidentifikasi kandungan senyawa dalam fraksi teraktif ekstrak kloroform dengan menggunakan GC-MS.

2. Metode Penelitian

Alat & Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun tempuyung, akuades, n-heksana, etanol 96%, kloroform, larva udang, garam krosok, Tween 20, silika gel 60, dan pelarut organik lain. Alat-alat yang digunakan adalah gelas beaker, erlenmeyer, gelas ukur, pipet tetes, plat KLT, chamber KLT, kromatografi kolom, akuarium, lampu UV, rotaryvaporator, botol vial, serta seperangkat alat analisis GC-MS.

Pembuatan Serbuk Tempuyung

Daun tempuyung (*Sonchus Arvensis* L) diperoleh dari kawasan Tawangmangu, Solo, Jawa Tengah dicuci bersih dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan kemudian dibuat serbuk dengan cara diblender.

Penapisan Fitokimia

Uji penapisan fitokimia serbuk daun tempuyung dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimianya. Uji fitokimia ini meliputi uji flavonoid, uji alkaloid, uji saponin, uji tannin, uji kuinon, uji triterpenoid dan steroid.

Pembuatan Ekstrak Kloroform Daun Tempuyung

Serbuk tempuyung sebanyak 680 gram dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana sampai larutan jernih kemudian ampas dikeringkan. Selanjutnya ampas dimaserasi dengan pelarut etanol 96% hingga pelarut menjadi jernih. Filtrat dari hasil maserasi diuapkan dengan rotaryvaporator sampai kental, kemudian dilakukan penghilangan klorofil dengan cara

penambahan aquades 1:1 lalu disaring sehingga didapatkan fraksi etanol+air. Fraksi etanol+air dipartisi dengan kloroform. Selanjutnya lapisan atas yang merupakan fraksi kloroform diuapkan menggunakan rotaryvaporator sampai diperoleh ekstrak padat dan diuji sitotoksiknya.

Pemisahan senyawa-senyawa dalam ekstrak kloroform

Ekstrak kloroform dianalisis dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fasa diam silika gel 60GF₂₅₄. Fasa gerak yang digunakan berupa campuran pelarut organik dengan perbandingan tertentu untuk menentukan eluen terbaik dan mengetahui banyaknya komponen dalam ekstrak kloroform.

Senyawa-senyawa dalam ekstrak kloroform dipisahkan dengan metode kromatografi kolom dengan eluen terbaik hasil KLT. Eluat dengan pola noda yang sama disatukan menjadi fraksi besar (A,B,C,D,E) kemudian diuji sitotoksiknya dengan metode BSLT.

Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan untuk menentukan aktivitas ekstrak kloroform dan fraksi A,B,C,D,E dengan menggunakan metode BSLT.

Pembuatan larutan media dilakukan dengan cara melarutkan 38 gram garam krosok ke dalam 1 L akuades. Larutan media ditempatkan dalam akuarium yang terbagi dalam bagian gelap dan terang. Telur udang diletakkan dalam bagian gelap akuarium. Larva akan menetas di bagian gelap dan kemudian berenang ke bagian terang. Larva siap dipakai untuk uji sitotoksik setelah berumur dua hari. Uji sitotoksik dilakukan dengan membuat larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm. Ekstrak kloroform tidak larut pada air garam, sehingga ditambahkan tween 20 sebanyak 5 μ L. Larutan air garam, 10 larva *Artemia salina* L., ekstrak dengan variasi konsentrasi dan tween 20 dimasukkan ke dalam botol vial 10 mL. Larutan kontrol dibuat dengan cara yang sama, akan tetapi tidak ditambahkan sampel pada larutan. Botol vial dijaga agar tetap mendapat penerangan. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan dihitung jumlah larva yang masih hidup kemudian ditentukan prosentase kematiannya [7]. Uji sitotoksik dilakukan 3 kali percobaan untuk setiap konsentrasi dan masing-masing menggunakan larutan kontrol. Selanjutnya dianalisis dengan metode Probit melalui hubungan konsentrasi dengan prosentase kematian sehingga diperoleh harga LC₅₀.

Analisis Isolat

Fraksi yang mempunyai LC₅₀ terkecil dianalisis dengan GC-MS untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi paling aktif tersebut.

3. Hasil dan Pembahasan

Pembuatan ekstrak kloroform dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dan partisi. Maserasi menggunakan n-heksana bertujuan untuk mengikat senyawa-senyawa aktif daun tempuyung yang bersifat

non polar serta menghilangkan lemak, kemudian dilanjutkan maserasi menggunakan etanol 96% untuk mengikat semua senyawa metabolit sekunder daun tempuyung baik yang bersifat polar maupun non polar. Ekstrak kental etanol ini sangat pekat dan berwarna hijau kehitaman. Penghilangan klorofil pada ekstrak kental etanol dilakukan dengan menambahkan akuades dengan perbandingan 1:1. Selanjutnya fraksi etanol+air dipartisi dengan kloroform hingga mendapatkan ekstrak kental kloroform sebanyak 3,05 gram.

Ekstrak kental kloroform dianalisis menggunakan KLT untuk mengetahui eluen yang tepat sebagai fase gerak dalam kromatografi kolom. Fase diam berupa silika gel 60GF₂₅₄ dan fase gerak berupa campuran eluen n-heksana p.a : kloroform p.a : etil asetat p.a dengan perbandingan 3:8:2. Kemudian sebanyak 2,5 gram ekstrak kloroform di kromatografi kolom dengan eluen n-heksana:kloroform: etil asetat dengan perbandingan 3:8:2. Eluat hasil kolom ditampung dalam 218 vial berwarna hijau hingga kuning kecoklatan. Fraksi hasil kolom di KLT untuk menentukan pola noda yang sama sehingga diperoleh 5 fraksi besar yaitu fraksi A, fraksi B, fraksi C, fraksi D dan fraksi E.

Selanjutnya untuk mengetahui aktivitas pada fraksi A,B,C,D dan E dilakukan uji sitotoksik menggunakan metode BSLT. Pada pengujian ini dilakukan dengan variasi konsentrasi yang bertujuan untuk melihat pengaruh konsentrasi dari ekstrak terhadap aktivitasnya. Senyawa aktif akan menghasilkan jumlah kematian larva *Artemia salina* L. yang tinggi. Data nilai kematian larva selanjutnya diolah untuk memperoleh nilai LC₅₀ dengan tingkat kepercayaan 95% menggunakan metode analisis probit.

Tabel 1: Harga LC₅₀ pada ekstrak kloroform, fraksi A, B, C, D dan E

Sampel	Harga LC ₅₀	Keterangan
Ekstrak kloroform	33,73 ppm	Sitotoksik sedang
Fraksi A	12,337ppm	Sangat Sitotoksik
Fraksi B	7,862 ppm	Sangat Sitotoksik
Fraksi C	94,98 ppm	Sitotoksik Sedang
Fraksi D	136,548 ppm	Sitotoksik
Fraksi E	75,568 ppm	Sitotoksik Sedang

Fraksi teraktif dengan harga LC₅₀ terkecil yaitu fraksi B 7,862 ppm. Selanjutnya fraksi B dianalisis dengan GC-MS untuk mengetahui jumlah senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan memperkirakan struktur senyawa tersebut. Kromatogram fraksi B ekstrak kloroform daun tempuyung sebagai berikut :

Berdasarkan hasil kromatogram di atas menunjukkan adanya 29 senyawa. Pada kromatogram terlihat adanya 5 senyawa dengan puncak tinggi yang memiliki indeks kemiripan dan kelimpahan yang besar yaitu puncak 18 (dibutil ftalat) dengan area 7,71%, puncak 19 (asam palmitat) dengan area 8,49%, puncak 21 (8,11,14 asam eikosatrienoat) dengan area 6,95%, puncak 27 (dioktil adipat) dengan area 7,90% dan puncak 29 (dioktil ftalat) dengan area 10,61%.

4. Kesimpulan

Fraksi B berupa gel berwarna coklat kehitaman merupakan fraksi yang paling sitotoksik dengan nilai LC₅₀ terkecil (7,862 ppm). Analisis menggunakan kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) menunjukkan bahwa fraksi B terdapat 29 senyawa. Senyawa-senyawa sitotoksik ekstrak daun tempuyung yang memiliki indeks kemiripan dan kelimpahan besar yaitu dibutil ftalat, asam palmitat, 8,11,14 asam eikosatrienoat, dioktil adipat dan dioktil ftalat.

5. Daftar Pustaka

- [1] LO Brandsæter, M Goul Thomsen, K Wærnhus, H Fykse, Effects of repeated clover undersowing in spring cereals and stubble treatments in autumn on *Elymus repens*, *Sonchus arvensis* and *Cirsium arvense*, *Crop Protection*, 32, (2012) 104-110 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2011.09.022>
- [2] Yang-Jun Xu, Shao-Bo Sun, Li-Mei Sun, Dong-Feng Qiu, Xiu-Jin Liu, Zhi-Bo Jiang, Cheng-Shan Yuan, Quinic acid esters and sesquiterpenes from *Sonchus arvensis*, *Food chemistry*, 111, 1, (2008) 92-97 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.028>
- [3] Xia ZhengXiang, Liang JingYu, Steroids and phenols from *Sonchus arvensis*, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8, 4, (2010) 267-269 <http://dx.doi.org/10.3724/SP.J.1009.2010.00267>
- [4] Jaka Sulaksana, B Santoso, DI Jayusman, Tempuyung Budi Daya Dan Pemanfaatan Untuk Obat, *Cetakan pertama. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal, 5, (2004) 10-11*
- [5] Adjib Sriningsih, H.W., Sumaryono, W., Wibowoa, A. E., Caidira, Firdayania, Kusumaningrum, S., Kartakusuma P., Analisis Senyawa Golongan Flavonoid Herba Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), in, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Pusat P2 Teknologi Farmasi dan Medika Deputi Bidang TAB BPPT, 2010.

- [6] N Radulović, P Blagojević, R Palić, Fatty acid derived compounds--the dominant volatile class of the essential oil poor *Sonchus arvensis* subsp. *uliginosus* (Bieb.) Nyman, *Natural product communications*, 4, 3, (2009) 405-410
- [7] BN Meyer, NR Ferrigni, JE Putnam, LB Jacobsen, DE j Nichols, Jerry L McLaughlin, Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents, *Planta medica*, 45, 05, (1982) 31-34
<http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-971236>